

538, 587

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



15 JUN 2005

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Juli 2004 (01.07.2004)

PCT

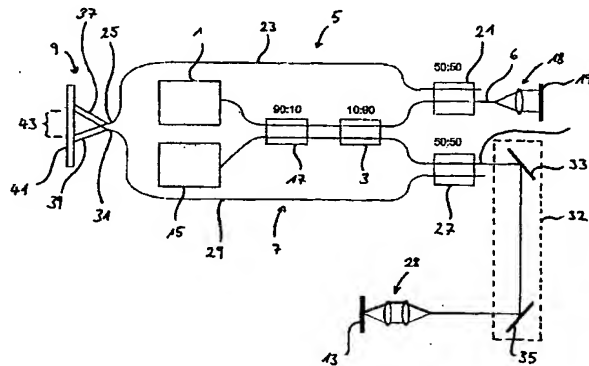
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/055570 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G02B 21/00, G01B 9/02**
- (21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP2003/014323**
- (22) Internationales Anmeldedatum:
16. Dezember 2003 (16.12.2003)
- (25) Einreichungssprache: **Deutsch**
- (26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**
- (30) Angaben zur Priorität:
102 60 887.3 17. Dezember 2002 (17.12.2002) **DE**
- (71) Anmelder (nur für AT, BE, BG, CH, CY, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GR, HU, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR):
CARL ZEISS [DE/DE]; 89518 Heidenheim (DE).
- (71) Anmelder (nur für CZ, GB, IE, JP): **CARL-ZEISS-STIFTUNG trading as CARL ZEISS [DE/DE]; 89518 Heidenheim (DE).**
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **HAUGER, Christoph [DE/DE]; Bertha-von-Suttner-Weg 46, 73431 Aalen (DE). MIESNER, Hans-Joachim [DE/DE]; Kapellensteige 8, 73447 Oberkochen (DE). MONZ, Ludwin [DE/DE]; Pfarrer-Brantzen-Str. 48, 55122 Mainz (DE).**

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: **COHERENCE MICROSCOPE**

(54) Bezeichnung: **KOHÄRENZMIKROSKOP**



(57) **Abstract:** The invention relates to a coherence microscope which comprises a light source (1) that emits time-incoherent light. The confocal coherence microscope further comprises a divider (3) for dividing up the light emitted by the light source (1) into a measuring light which is supplied to a sample (13) and is reflected by the same, and into a reference light. A superposition device (25, 31) spatially superimposes the measuring light reflected by the sample (13) with the reference light. A linear array (41) is used to detect the light resulting from said superposition and is adapted to allow for a read-out rate of at least approximately 60 kHz. In order to obtain read-out rates of said order, especially short linear arrays (41) comprising not more than approximately 1000 sensor elements, for example CCD elements, and especially ultra-short linear arrays (41) comprising not more than approximately 500 sensor elements are used. The superposition device is provided with an emission device (25, 31) for emitting the measuring light and the reference light, which is adapted and disposed relative to the sensor array (41) in such a manner that at least a part of the sensor array (41) is irradiated with superimposed light over a prolonged period of time. The ratio of the distances covered by the measuring light and the reference light from the emission device (25, 31) to the respective point of incidence on the sensor array (41) varies in the section of the sensor array (41) that is irradiated with superimposed light.

(57) **Zusammenfassung:** Erfindungsgemäss umfasst ein Kohärenzmikroskop eine zeitlich inkohärentes Licht abgebende Lichtquelle (1). Ausserdem umfasst das konfokale Kohärenzmikroskop einen Aufteiler (3) zum Aufteilen des von der Lichtquelle (1) abgegebenen Lichtes in Messlicht, welches einer Probe (13) zugeleitet und von dieser reflektiert wird, und Referenzlicht. Weiterhin sind eine Überlagerungseinrichtung (25, 31) zum räumlichen Überlagern des von der Probe (13) reflektierten Messlichts mit dem Referenzlicht

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2004/055570 A2



(74) **Anwalt:** THEOBALD, Andreas; Rothkopf & Theobald,
Chausseestrasse 29, 10115 Berlin (DE).

Veröffentlicht:

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts*

(81) **Bestimmungsstaaten** (*national*): JP, US.

(84) **Bestimmungsstaaten** (*regional*): europäisches Patent (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.*

und eine Sensorzeile (41) zum Detektieren des aus der Überlagerung resultierenden Lichts, welche derart ausgelegt ist, dass sie eine Ausleserate von mindestens ca. 60 kHz ermöglicht, vorhanden. Um derartige Ausleseraten zu erzielen, können insbesondere kurze Sensorzeilen (41) mit höchstens etwa 1000 Sensorelementen, bspw. CCD-Elementen (CCD: Charge Coupled Device), und insbesondere sehr kurze Sensorzeilen (41) mit höchstens etwa 500 Sensorelementen Verwendung finden. Die Überlagerungseinrichtung weist eine Abstrahleinrichtung (25, 31) zum Abstrahlen des Messlichts und des Referenzlichts auf, die derart ausgebildet und relativ zur Sensoranordnung (41) angeordnet ist, dass eine ausgedehnte Bestrahlung mindestens eines Teils der Sensoranordnung (41) mit überlagertem Licht erfolgt und das Verhältnis der von dem Messlicht und dem Referenzlicht von der Abstrahleinrichtung (25, 31) bis zum jeweiligen Ruftreffpunkt auf der Sensoranordnung (41) zurückgelegten Wegstrecken im mit überlagertem Licht bestrahlten Abschnitt der Sensoranordnung (41) variiert.

Kohärenzmikroskop

Die Erfindung betrifft ein Kohärenzmikroskop sowie ein Verfahren zum
5 Betreiben eines derartigen Mikroskops.

In der konventionellen Mikroskopie ist die scharfe Darstellung räumlich
ausgedehnter Objekte problematisch. Durch unscharfe Beiträge von
Objektbereichen ober- und unterhalb der Fokusebene wird die Bildschärfe
10 beeinträchtigt. Es sind daher unterschiedliche Vorrichtungen und Verfahren
zum Abbilden räumlich ausgedehnter Objekte entwickelt worden.

Ein Verfahren, mit dem scharfe Bilder von räumlich ausgedehnten Objekten
gewonnen werden können, nutzt zum Abbilden eine konfokale Optik. Das
15 Konzept des Abbildens mittels konfokaler Optik ist bspw. in US 3,013,467
beschrieben. Es beruht darauf, dass bspw. mittels einer Lochblende mit
kleinem Loch (Pinhole) eine punktförmige Lichtquelle zur Verfügung gestellt
wird, deren Licht auf einen Punkt der Probe fokussiert wird. Das von diesem
Probenpunkt reflektierte Licht wird wiederum auf einen Punkt fokussiert, der
20 ein Bild des Probenpunktes darstellt. Am Ort dieses Bildes ist ein zweites
Pinhole angeordnet, hinter dem sich ein Detektor zum Detektieren des
reflektierten Lichtes befindet. Nur aus der Fokusebene stammendes Licht
wird am Ort der zweiten Lochblende auf einen Punkt abgebildet und kann
das Pinhole passieren. Licht, welches in der Probe vor oder hinter der
25 Fokusebene reflektiert worden ist, bildet am Ort der zweiten Lochblende
hingegen eine Scheibe. Solches Licht kann deshalb das Pinhole nicht
passieren, so dass im Wesentlichen nur Licht vom Fokuspunkt den Detektor
erreicht. Durch konfokales Abbilden können daher auch räumlich

ausgedehnte Objekte scharf abgebildet werden, da Beiträge von ober- oder unterhalb der Fokusebene liegenden Objektbereichen nicht in die Abbildung eingehen. Statt Pinholes können auch Schlitzblenden Verwendung finden. In diesem Fall wird die Lichtquelle als Strich auf die Probe und das von der Probe reflektierte Licht als Strich auf dieselbe oder eine weitere Schlitzblende abgebildet.

Konfokale Mikroskope, also auf konfokaler Abbildung beruhende Mikroskope, finden bspw. als Laser Scan Mikroskope (LSM) insbesondere in der Biologie, der Materialwissenschaft und der medizinischen Diagnostik Einsatz. Für die intraoperative Diagnostik besteht die besondere Herausforderung an das entsprechende mikroskopische Rasterverfahren darin, schnell, hochauflösend und kompatibel für den Einsatz im Endoskop zu sein. Mit derartigen Verfahren können optische Biopsien zur Tumorerkennung zum Beispiel im Magen-Darm-Trakt realisiert werden.

Ein konfokales Laser Scan Mikroskop in Verbindung mit einem Endoskop ist beispielsweise das in Y.S. Sabharwal et al., „Slit Scanning Confocal Microendoscope for High Resolution In-Vivo Imaging“, Appl. Opt. 34, Seiten 7133 - 7144 (1999) beschriebene Laser-Scan-Mikroendoskop. Dieses Instrument bildet einen Laserstrahl mittels einer konfokalen Blende auf die Probe ab, rastert die Probe mit dem Laserstrahl zweidimensional (lateral) ab und nimmt das von der Probe reflektierte Streulicht auf. Um ein räumliches, d.h. dreidimensionales Bild aufzunehmen, werden zweidimensionale Ebenen in verschiedenen Tiefen gescannt. Die Tiefe der aufzunehmenden Ebene wird durch Verschieben der Fokusebene des Mikroskops in der Probe eingestellt. Das Ergebnis dieses Verfahrens ist ein sogenannter z-Stapel von zweidimensionalen Bildern. Die Scans werden entweder manuell durchgeführt (mit hoher Ungenauigkeit und mangelnder Reproduzierbarkeit) oder mittels miniaturisierter Fokussiereinrichtungen, die hohen Anforderungen an die Genauigkeit sowie die Reproduzierbarkeit genügen müssen und zudem nur eine geringe Größe haben dürfen. Die mechanischen Anforderungen an solche Fokussiereinrichtungen sind sehr hoch. Laser-

Scan-Mikroendoskope sind daher noch nicht in kommerzielle Produkte übergegangen.

- Die longitudinale Auflösung des Laser-Scan-Mikroendoskops ist durch die
- 5 konfokale Optik bestimmt. Durch die konfokale Abbildung mit Hilfe einer Blende wird erreicht, dass nur Streulicht aus einem longitudinal eng begrenzten Tiefenbereich auf den Detektor fällt. Die Tiefenausdehnung dieses Bereiches, und damit die longitudinale Auflösung des Mikroskops, hängt von der Öffnung der Blende, d.h. bspw. des Loches der Lochblende,
- 10 ab und erreicht in der Praxis Werte von typischerweise weniger als 10 μm . Bessere longitudinale Auflösungen, d.h. enger begrenzte Tiefenbereiche, sind durch weiteres Schließen der Blendenöffnung möglich, was jedoch mit einem hohen Lichtverlust verbunden ist. Nachteile des Laser-Scan-Mikroendoskops sind die lange Scanzeit, die zum Aufnehmen eines z-
- 15 Stapels nötig ist, und eine geringe optische Empfindlichkeit. Die optische Empfindlichkeit wird durch die im Allgemeinen geringe Transmission der optischen Lichtleiterbündel des Laser-Scan-Mikroendoskops sowie durch störende Reflexe an den optischen Flächen beeinträchtigt.
- 20 Eine Alternative zum Abbilden von räumlich ausgedehnten Objekten, die nicht auf dem Prinzip der konfokalen Abbildung beruht, ist die in DE 199 29 406 beschriebene Vorrichtung zum Durchführen einer optischen Kohärenz-Tomographie (OCT, Optical Coherence Tomography). Sie umfasst eine Lichtquelle, die im Wesentlichen inkohärentes Licht abgibt, und eine
- 25 Strahlerzeugungseinrichtung zum Erzeugen eines Messlichtstrahls sowie eines bezüglich eines Referenzzeitpunktes zu dem Messlichtstrahl kohärenten Referenzlichtstrahls aus dem inkohärenten Licht. Mit dem Messlichtstrahl wird die Probe bestrahlt. Das von der Probe reflektierte Licht wird aufgenommen und mit dem Referenzlichtstrahl räumlich überlagert.
- 30 Wegen der zeitlichen Inkohärenz der Strahlung treten beim Überlagern nur bei in Wesentlichen identischen optischen Weglängen von Mess- und Referenzlichtstrahl Interferenzerscheinungen auf. Unterschiedliche optische Weglängen des Referenzlichtstrahls führen daher zu Interferenzerscheinungen mit vom Objekt in unterschiedlichen Tiefen reflektiertem

Messlicht. Somit können die verschiedenen optischen Weglängen des Referenzlichtstrahls mit der Tiefe, in der die Reflexion des Messlichts in der Probe stattgefunden hat, in Beziehung gesetzt werden, um ein Tiefenprofil der Probe zu erstellen.

5

Ein Nachteil der vorgestellten Geräte ist es, dass sich mit ihnen eine optische Biopsie nicht in der gewünschten Weise realisieren lässt.

10

Aufgabe der Erfindung ist es daher, eine Vorrichtung zur Verfügung zu stellen, mit der sich eine optische Biopsie in einer gegenüber dem Stand der Technik vorteilhaften Weise realisieren lässt. Es ist eine weitere Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zum Betreiben einer derartigen Vorrichtung zur Verfügung zu stellen.

15

Die erste Aufgabe wird durch ein Kohärenzmikroskop nach Anspruch 1, die zweite Aufgabe durch ein Verfahren nach Anspruch 24 gelöst. Weitere Ausgestaltungen der Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen angegeben.

20

Erfindungsgemäß umfasst ein Kohärenzmikroskop eine zeitlich inkohärente Licht abgebende Lichtquelle. Als zeitlich inkohärente Lichtquelle ist dabei jede Lichtquelle mit geeignet kurzer Kohärenzlänge anzusehen. Außerdem umfasst das Kohärenzmikroskop einen Aufteiler zum Aufteilen des von der Lichtquelle abgegebenen Lichtes in Messlicht, welches einer Probe

25

zugeleitet und von dieser reflektiert wird, und Referenzlicht. Weiterhin sind eine Überlagerungseinrichtung zum räumlichen Überlagern des von der Probe reflektierten Messlichts mit dem Referenzlicht sowie eine Sensorzeile zum Detektieren des aus der Überlagerung resultierenden Lichts, welche derart ausgestaltet ist, dass sie eine Ausleserate von mindestens ca. 60 kHz

30

ermöglicht, vorhanden. Um derartige Ausleseraten zu erzielen, können insbesondere kurze Sensorzeilen mit höchstens etwa 1000 Sensorelementen, bspw. CCD-Elementen (CCD: Charge Coupled Device), und insbesondere sehr kurze Sensorzeilen mit höchstens etwa 500 Sensorelementen Verwendung finden. Die Überlagerungseinrichtung weist eine

Abstrahleinrichtung zum Abstrahlen des Messlichts und des Referenzlichts auf, die derart ausgebildet und relativ zur Sensorzeile angeordnet ist, dass eine ausgedehnte Bestrahlung mindestens eines Teils der Sensorzeile mit überlagertem Licht erfolgt und das Verhältnis der von dem Messlicht und dem Referenzlicht von der Abstrahleinrichtung bis zum jeweiligen Auftreffpunkt auf der Sensorzeile zurückgelegten Wegstrecken im mit überlagertem Licht bestrahlten Abschnitt der Sensorzeile variiert.

Das erfindungsgemäße Kohärenzmikroskop basiert auf den folgenden Überlegungen:

Ein Haupthindernis für die Realisierung einer optischen Biopsie mit dem beschriebenen Stand der Technik liegt darin, dass die Aufnahmezeiten zum Aufnehmen eines z-Stapels hoch sind.

Im LSM liegt die Ursache hierfür u.a. darin, dass die Probe zum Aufnehmen eines z-Stapels nacheinander mehrmals in unterschiedlichen Tiefen abgerastert wird, wobei zum Verändern der Tiefe jeweils die Fokusebene der Mikroskopoptik neu eingestellt werden muss. Das Einstellen erfordert ein mechanisches Bewegen optischer Elemente, was nicht mit der erwünschten Geschwindigkeit erfolgen kann. Hinzu kommt, dass für eine optische Biopsie sowohl eine hohe laterale Auflösung als auch eine hohe longitudinale Auflösung erwünscht ist. Eine hohe longitudinale Auflösung erfordert jedoch eine Verringerung der Blendenöffnung, was hohe Lichtverluste zur Folge hat.

Ebenso wie im LSM ist auch bei einem Standart-OCT eine mechanische Bewegung nötig, um zu Bildinformationen aus verschiedenen Tiefen der Probe zu gelangen. In derartigen Geräten erfolgt die Tiefenbestimmung anhand der Interferenz eines Messstrahls mit einem Referenzstrahl. Die Tiefe, aus der die Bildinformation stammt, ergibt sich dabei aus der vom Referenzstrahl bis zum Detektor zurückgelegten Wegstrecke. Diese Wegstrecke wird üblicherweise dadurch variiert, dass der Referenzstrahl an einem verschiebbaren Spiegel reflektiert wird. Zum Ändern der Tiefe, aus der die Bildinformation stammt, muss daher die Spiegelposition mechanisch

verändert werden, was ebenso wie das Bewegen der optischen Elemente im LSM nicht mit der erwünschten Geschwindigkeit erfolgen kann.

Das in DE 199 29 406 beschriebene sog. Zeilen-OCT erfordert im Unterschied zu einem Standard-OCT keinen verschiebbaren Spiegel, um die Probentiefe zu ermitteln, aus der die Bildinformation stammt. In diesem Gerät wird das Licht von der Überlagerungseinrichtung derart auf die Sensorzeile abgestrahlt, dass die vom Referenzlichtstrahl zurückgelegte Wegstrecke vom Auftreffpunkt des Lichts auf der Sensorzeile abhängt. Die Probentiefe ergibt sich in diesem Gerät daher aus der Position des Auftreffpunktes des überlagerten Lichtes auf der Sensorzeile, d.h. der Position des jeweils ausgelesenen Sensorelements. Das mechanische Verschieben eines Spiegels entfällt daher.

Wird in einem Zeilen-OCT die Sensorzeile derart gewählt, dass das Auslesen der Sensorzeile mit einer hohen Ausleserate, d.h. ca. 60 kHz oder mehr, erfolgen kann, so lassen sich die für die optische Biopsie nötigen kurzen Aufnahmezeiten realisieren. Zur Zeit sind Sensorzeilen mit den gewünschten Ausleseraten und einer Zeilenlänge zwischen 128 und 1024 Sensorelementen kommerziell erhältlich. Die Sensorzeile ist daher vorzugsweise eine kurze Zeile, die nicht mehr als ca. 1000 Sensorelemente umfasst. Insbesondere, wenn eine sehr hohe Ausleserate erzielt werden soll, findet bevorzugt eine sehr kurze Sensorzeile mit nicht mehr als ca. 500 Sensorelementen Verwendung.

25

Es muss jedoch nicht notwendigerweise eine kurze bzw. sehr kurze Sensorzeile Verwendung finden. Stattdessen kann auch eine lange Sensorzeile, d.h. eine Sensorzeile mit mehr als ca. 1000 Sensorelementen Verwendung finden, bspw. eine mit 2048 oder 4096 Sensorelementen. Die hohe Ausleserate kann in diesem Fall dadurch erzielt werden, dass nur jeweils ein Teil der Sensorelemente bestrahlt und ausgelesen wird, d.h. die genutzte Länge der Zeile geringer ist als ihre tatsächliche Länge. Findet bspw. eine Sensorzeile mit 2048 Sensorelementen Verwendung, so werden vorzugsweise nur ca. 1000 Sensorelemente der Zeile bestrahlt und

30

ausgelesen. Weiter vorzugsweise werden nur etwa 500 Sensorelemente bestrahlt und ausgelesen.

5 Wenn in der Beschreibung oder den Ansprüchen von der Länge einer Sensorzeile die Rede ist, soll darunter nicht ausschließlich die tatsächliche Länge der Zeile zu verstehen sein, sondern auch die genutzte Länge einer Sensorzeile mit einer tatsächlichen Länge, welche die genutzte Länge übersteigt.

10 Die kurze Sensorzeile und der Verzicht auf bewegte Teile zum Durchführen eines Tiefenscans ermöglichen die für die optische Biopsie nötigen kurzen Aufnahmezeiten.

15 Außer durch die kurzen Aufnahmezeiten zeichnet sich das erfindungsgemäße Kohärenzmikroskop gegenüber dem Stand der Technik insbesondere auch durch folgende Punkte aus:

20 1) Gegenüber einem Laser-Scan-Mikroskop (LSM) zeichnet sich das Kohärenzmikroskop durch eine wesentlich höhere Signalempfindlichkeit aus, da das Detektionsprinzip wie beim OCT auf der Messung von Amplituden und nicht auf der Messung von Intensitäten beruht. Der dynamische Bereich der Detektion ist daher um mehrere Größenordnungen größer als bei einem klassischen Lichtmikroskop. Dieser Umstand ist insbesondere beim Anwenden in der konfokalen Faser-Mikroskopie von Vorteil, die mit einem geringen Signalpegel arbeitet.

30 2) Die höhere Signalempfindlichkeit des Kohärenzmikroskops hat beim Anwenden in der konfokalen Faser-Mikroskopie gegenüber einem Faser-LSM den qualitativen Vorteil, dass sowohl Bereiche mit hoher Transparenz als auch Bereiche mit hoher optischer Dichte besser detektierbar sind. Diese Eigenschaft ist insbesondere für optische Biopsien interessant.

3) Im Gegensatz sowohl zur klassischen Arbeitsweise eines Laser-Scan-Mikroskops als auch der eines klassischen OCT wird mit dem erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskop an jedem Punkt der lateralen Probenebene (XY-Ebene) mit hoher Geschwindigkeit ein vollständiger longitudinaler Scan (z-Scan) statisch durchgeführt. Das Aufnehmen von z-Stapeln ist daher bei Probentiefen von typischerweise 100 µm nicht nötig.

4) Der unter Punkt 4 genannte Vorzug des statischen Aufnehmens eines vollständigen z-Scans ermöglicht eine Vereinfachung des Scanvorgangs. Anstelle eines vollständigen XY-Scans (sog. A-Scan) kann die Probe auch entlang einer XZ-Ebene gerastert werden, d.h. lediglich entlang einer X-Line gescannt werden (sog. B-Scan), wobei die X-Richtung in ihrer Orientierung und ihrer „Breite“ einstellbar ist, ohne dass eine neue Positionierung der Mikroskopoptik, welche ggf. in ein Endoskop integriert ist, nötig wäre. Dadurch wird eine sehr schnelle optische Biopsie möglich, die dem Pathologen einen Schnitt in gewohnter Orientierung liefert. Die Breite der eindimensionalen Linie kann insbesondere an die gewünschte Auflösung und/oder die gewünschte Signalstärke angepasst werden.

20

Der Tiefenbereich, der mit dem erfindungsgemäßen optischen Kohärenzmikroskop durch Überlagerung von Mess- und Referenzlicht für die Messung zugänglich ist, also die Tiefenausdehnung des aus der Überlagerung resultierenden Tiefenprofils, wird Tiefenhub genannt. Der Tiefenhub ist unabhängig von der Tiefenauflösung und wird durch die Anzahl der Sensorelemente in der Sensorzeile, der Wellenlänge des verwendeten Lichts sowie der Zahl der Sensorelemente pro Periode des Interferenzsignals bestimmt.

30 Das Kohärenzmikroskop ist insbesondere derart ausgestaltet, dass es einen Tiefenhub aufweist, welcher mindestens der durch die Kohärenzlänge des von der Lichtquelle abgegebenen Lichtes bestimmten Tiefenauflösung des Kohärenzmikroskops und höchstens $\lambda/4$ entspricht, wobei λ die Wellenlänge des von der Lichtquelle abgegebenen Lichtes ist und N die Anzahl der

Sensorelemente bzw. der genutzten Sensorelemente in der Sensorzeile. Dabei stellt $N\lambda/4$ den größten Tiefenhub dar, für den die Sensorzeile mit N Sensorelementen bzw. N genutzten Sensorelementen bei Verwendung von Licht der Wellenlänge λ das Abtasttheorem erfüllt.

5

Typischerweise liegt der Tiefenhub im Bereich von ca. 100 μm , er kann jedoch auch darunter liegen und bspw. 20 μm oder weniger betragen. Insbesondere kann er auch im Bereich der Tiefenauflösung des Kohärenzmikroskops liegen. Je geringer der Tiefenhub ist, desto kürzer kann die verwendete Sensorzeile und damit auch die Aufnahmezeit zum Aufnehmen eines Bildes sein.

10

Mit dem erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskop sind Tiefenauflösungen von 10 μm über einen Tiefenhub von ca. 100 μm möglich, ohne dass ein z-Stapel aufgenommen werden muss, was die Scanzeit zum Abrastern einer Probe erheblich verkürzt.

15

In einer vorteilhaften Ausgestaltung umfasst das erfindungsgemäße Kohärenzmikroskop eine Messlicht abgebende Punktlichtquelle und mindestens eine konfokale Blende. Dabei kann die Punktlichtquelle auch durch die mindestens eine konfokale Blende gebildet sein. Außerdem ist eine Mikroskoptik zum Fokussieren des Messlichts auf die Probe sowie zum Fokussieren des von der Probe reflektierten Messlichts auf die mindestens eine konfokale Blende, welche ggf. gleichzeitig die Punktlichtquelle bildet, oder eine weitere konfokale Blende vorhanden. Als konfokale Blende soll hierbei nicht nur eine Loch- oder Schlitzscheibe zu verstehen sein, sondern jedes konfokal angeordnete optische Element, das eine Apertur bzw. numerische Apertur besitzt.

20

25

30

Im OCT nach Stand der Technik wirkt sich Streulicht, das aus anderen als den Tiefen des zu untersuchenden Probenbereiches stammt, störend auf die Tiefenmessung aus. Solches Streulicht wird im erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskop durch die konfokale Blende reduziert. Die Konfokalität dient dabei nicht zum Erhöhen der lateralen Auflösung oder zum Ermöglichen des

Messens in scharf begrenzten Tiefenbereichen. Es kann daher mit mittleren oder hohen Aperturen bzw. numerischen Aperturen ($NA = 0,1$ bis $0,5$) gearbeitet werden, welche das unerwünschte Streulicht wirksam abblocken, aber dennoch eine hohe laterale Auflösung zulassen, mit der subzelluläre Strukturen erkennbar sind.

Vorzugsweise ist die Apertur der mindestens einen konfokalen Blende derart gewählt, dass der Tiefenhub des Kohärenzmikroskops im Wesentlichen der Tiefenausdehnung seiner konfokalen Zone entspricht.

10

In einer weiteren Ausgestaltung des Kohärenzmikroskops ist eine optische Faser vorhanden, die das Messlicht der Mikroskopoptik zuführt. Zwischen der optischen Faser und der Mikroskopoptik ist außerdem vorzugsweise eine Scaneinrichtung angeordnet. Die mindestens eine konfokale Blende kann in diesem Fall durch die optische Faser gebildet sein. Wird eine Monomodefaser als optische Faser verwendet, ist die vom Messlicht zurückgelegte optische Weglänge mit hoher Genauigkeit festgelegt und bekannt.

In noch einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung ist zwischen die optische Faser und die Mikroskopoptik, vorzugsweise zwischen die Scaneinrichtung und die Mikroskopoptik, ein geordnetes Faserbündel zwischengeschaltet. In diesem Fall kann die mindestens eine konfokale Blende alternativ durch die optische Faser oder durch die Fasern des Faserbündels gebildet sein. Da ein Aufnehmen von z-Stapeln mit dem erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskop nicht nötig ist, sind keine mechanisch bewegten Elemente am distalen Ende der Faser nötig. Ebenso müssen keine zusätzlichen Fokussiereinrichtungen am distalen Ende implementiert werden.

In einer besonderen Ausgestaltung der Erfindung kann das geordnete Faserbündel in ein Endoskop integriert sein. Das distale Ende des Endoskops kann dabei eine Vergrößerungsoptik umfassen, deren numerische Apertur derart gewählt ist, dass die optische Auflösung an der

Faserbündelendfläche dem Durchmesser der Fasern des Faserbündels entspricht.

5 Eine weitere Ausgestaltung des Kohärenzmikroskops zeichnet sich dadurch aus, dass eine Scaneinrichtung zum Einkoppeln von Messlicht in die Fasern und/oder zum Auskoppeln von der Probe reflektierten Messlichts aus den Fasern vorhanden ist. In einer besonderen Ausgestaltung ist zwischen der Scaneinrichtung und dem proximalen Ende des geordneten Faserbündels eine Optik vorhanden, die derart ausgestaltet ist, dass das in die Fasern
10 einzukoppelnde Licht am proximalen Ende des Faserbündels leicht defokussiert ist. Auf diese Weise kann sichergestellt werden, dass jede Einzelfaser beim Einkoppeln auf gleiche Weise gut getroffen wird. Alternativ kann eine Scansteuerung vorhanden sein, die zum Durchführen einer Initialisierung ausgestaltet ist, in welcher die Mittellage der Fasern am
15 proximalen Ende des geordneten Faserbündels ermittelt wird, um das Einkoppeln zu verbessern.

In einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung sind die Fasern des geordneten Faserbündels am proximalen Ende des Faserbündels linear
20 nebeneinander angeordnet. Diese Ausgestaltung ermöglicht das Abrastern mit sehr hohen Scanfrequenzen. Gleichzeitig ermöglicht sie ein flächiges Abrastern mit nur einem beweglichen Scanelement. Als bewegliches Scanelement kann die Scaneinrichtung insbesondere einen drehbaren Polygonspiegel aufweisen.

25 Das beschriebene Ein- und Auskoppeln des Lichtes am proximalen Ende des Faserbündels und/oder die lineare Anordnung der Fasern am proximalen Ende des Faserbündels, lassen sich nicht nur im erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskop vorteilhaft einsetzen, sondern auch in anderen Geräten,
30 in denen Licht in optische Faserbündel ein- bzw. auszukoppeln ist.

Die numerische Apertur und die Vergrößerung der Mikroskopoptik des erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskops können in vorteilhafter Weise derart gewählt sein, dass die laterale Auflösung näherungsweise dem

Durchmesser der Fasern des geordneten Faserbündels entspricht und ein maximaler Tiefenhub erreicht wird.

Weitere Merkmale, Eigenschaften und Vorteile der vorliegenden Erfindung
5 werden sich dem Fachmann anhand der folgenden detaillierten Beschreibung von Ausführungsbeispielen unter Bezugnahme auf die beiliegenden Zeichnungen erschließen.

Figur 1 zeigt schematisch ein erstes Ausführungsbeispiel für das
10 erfindungsgemäße Kohärenzmikroskop.

Figur 2 zeigt schematisch ein zweites Ausführungsbeispiel für das erfindungsgemäße Kohärenzmikroskop.

15 Figur 3 zeigt schematisch das Ein- und Auskoppeln von Licht in bzw. aus Fasern eines optischen Faserbündels.

Zunächst wird anhand von Fig. 1 der prinzipielle Aufbau des erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskops beschrieben. Das Mikroskop
20 umfasst eine Lichtquelle 1 zum Abgeben von zeitlich inkohärentem Licht, einen Aufteiler 3 zum Aufteilen des Lichtes in einen Referenzstrahl und einen Messstrahl, einen Referenzzweig 5, in den der Referenzstrahl vom Aufteiler 3 eingekoppelt wird und in dem er einen definierten Weg zurücklegt, einen Messzweig 7, in den der Messstrahl vom Aufteiler eingekoppelt wird und
25 über den der Messstrahl der Probe 13 zugeführt wird, sowie einen Detektor 9, in dem von der Probe reflektiertes Messlicht mit Referenzlicht aus dem Referenzzweig 5 überlagert und das überlagerte Licht detektiert wird.

Die Lichtquelle 1 ist eine Breitbandlichtquelle, die im Wesentlichen zeitlich
30 inkohärente Strahlung abgibt. Im Ausführungsbeispiel ist die Lichtquelle 1 eine Superluminiszenzdiode. Alternativ können auch andere Lichtquellen Verwendung finden, sofern sie Licht mit einer Kohärenzlänge abgeben, die einen vorbestimmten Wert nicht überschreitet, wie bspw. ein kurze Lichtpulse abgebender Laser. Die Kohärenzlänge der Lichtquelle 1 bestimmt die Tiefen-

- auflösung des optischen Kohärenzmikroskops. Das Mikroskop umfasst neben der Lichtquelle 1 eine Laserlichtquelle 15, bspw. eine Laserdiode, die zeitlich kohärente Strahlung im für das menschliche Auge sichtbaren Frequenzbereich abgibt. Die Laserlichtquelle 15 bzw. das von ihr ausgehende Laserlicht dient dazu, den Strahlenverlauf des im nicht sichtbaren Bereich abgegebenen Lichts der Superluminiszenzdiode 1 verfolgen zu können. Dazu wird das Laserlicht in einem Mischer 17 mit dem Licht der Superluminiszenzdiode 1 gemischt, wobei der gemischte Strahl zu 90% auf die Superluminiszenzdiode 1 und zu 10% auf die Laserlichtquelle 15 zurückgeht. Selbstverständlich sind auch andere Mischungsverhältnisse möglich. Die vom Mischer 17 erzeugte Strahlung wird vom Aufteiler 3 zu 90% in den Messzweig und zu 10% in den Referenzzweig eingekoppelt. Auch hierbei sind andere Mischungsverhältnisse möglich.
- 15 Im Referenzzweig 5 wird der Referenzlichtstrahl in einen Referenzlichtleiter 6 eingekoppelt und über eine Optik 18 einem Spiegel 19 zugeführt. Der Spiegel 19 reflektiert den Referenzstrahl, welcher nach der Reflexion von der Optik 18 wieder in den Referenzlichtleiter 6 eingekoppelt wird. Ein Mischer 21 mischt das reflektierte Referenzlicht mit dem vom Aufteiler 3 kommenden
- 20 Referenzstrahl im Verhältnis 50:50 und koppelt das derart aufbereitete Licht in einen weiteren, zum Detektor 9 führenden Referenzlichtleiter 23 ein, welcher den Referenzlichtstrahl einem Strahlenausgang 25 des Referenzzweiges 5 zuleitet. Die Referenzlichtleiter sind vorzugsweise Monomodefasern.
- 25
- Das Messlicht wird über ein im Messzweig 7 angeordneten Messlichtleiter 8 einer Scaneinrichtung 32 zugeführt, von der er auf eine den Messlichtstrahl auf einen Probenbereich fokussierende Mikroskopoptik 28 gerichtet wird. Die Scaneinrichtung 32 umfasst einen ersten um eine Achse schwenkbaren
- 30 Galvanometerspiegel 33 zum Vermitteln einer X-Ablenkung des Messstrahls sowie einen zweiten um eine Achse schwenkbaren Galvanometerspiegel 35 zum Vermitteln einer Y-Ablenkung des Messstrahls. Die Achsen, um welche die jeweiligen Galvanometerspiegel 33, 35 schwenkbar sind, stehen vorzugsweise senkrecht zueinander, können jedoch auch beliebige Winkel

zueinander einnehmen, solange sie nicht parallel zueinander sind. Mittels einer Scansteuerung (nicht dargestellt) werden die Galvanometerspiegel 33, 35 so gesteuert, dass Schritt für Schritt ein lateraler Probenbereich gescannt wird. In jedem Scanschritt wird dabei das von der Probe 13 reflektierte Licht
5 von der Mikroskopoptik 28 aufgenommen und über die Scaneinrichtung 32 dem Messlichtleiter 8 wieder zugeführt.

Die numerische Apertur NA des Messlichtleiters 8 stellt sowohl eine Punktlichtquelle als auch eine konfokale Blende des Kohärenzmikroskops
10 dar. Die numerische Apertur und die Vergrößerung der Mikroskopoptik sind dabei vorteilhafterweise so gewählt, dass die laterale Auflösung des Mikroskops näherungsweise dem Durchmesser einer Faser (typischerweise 1 bis 10 µm) entspricht und ein maximaler axialer Schärfenbereich erreicht wird. Beträgt die numerische Apertur einer Faser bspw. $NA=0,18$, so wird
15 ein axialer Schärfenbereich von $4\lambda / NA^2 = 100 \mu\text{m}$ und eine laterale Auflösung von $0,5\lambda / NA = 2,2 \mu\text{m}$ erreicht.

Ein Mischer 27, dem das Messlicht über den Messlichtleiter 8 zugeleitet wird, mischt das von der Probe reflektierte Messlicht im Verhältnis 50:50. Das
20 derart aufbereitete Messlicht wird vom Mischer 27 in einen weiteren Messlichtleiter 29, ebenfalls vorzugsweise eine Monomodefaser, einkoppelt, der das Messlicht dem Strahlausgang 31 des Messzweiges 7 zuleitet.

Von den Strahlenausgängen 25, 31 des Referenzzweiges 5 bzw. des
25 Messzweiges 7 wird das Referenzlicht und das Messlicht in Form Lichtkegeln 37, 39 auf eine CCD-Zeile 41 als Sensorzeile des Detektors 9 gerichtet, welche die Sensorfläche des Detektors 9 darstellt. Die beiden Strahlenausgänge 25, 31 sind voneinander beabstandet angeordnet, so dass sich die beiden Lichtkegel teilweise überlagern und mindestens einen
30 Teilbereich 43 der CCD-Zeile 41 gleichzeitig beleuchten. Im vorliegenden Ausführungsbeispiel besitzt CCD-Zeile 512 Pixel, die im Wesentlichen alle von überlagertem Licht bestrahlt werden. Nur, wenn das an einem Punkt, d.h. einem Pixel, der CCD-Zeile 41 ankommende Messlicht die gleiche Wegstrecke zurückgelegt hat wie das am selben Punkt der CCD-Zeile 41

ankommende Referenzlicht, treten Interferenzerscheinungen auf. Aus den bekannten Weglängen, welche das Referenzlicht vom Strahlenausgang 25 bis zu den jeweiligen Punkten auf der CCD-Zeile zurückzulegen hat, lässt sich dem jeweiligen Punkt auf der CCD-Zeile 41 eine Tiefe innerhalb der Probe 13 zuordnen. Nur Messlicht, welches in dieser Tiefe reflektiert worden ist, interferiert an dem zugeordneten Punkt der CCD-Zeile 41 mit dem Referenzlicht.

Eine nicht dargestellte Ausleseseinheit liest die CCD-Zeile aus und gibt die ausgelesenen Daten an eine Auswerteeinheit (ebenfalls nicht dargestellt) weiter, welche die Zuordnung eines Pixels zur Probentiefe, aus welcher das auf das Pixel auftreffende Messlicht stammt, vornimmt. Aufgrund der relativ geringen Zahl der auszulesenden Pixel kann das Auslesen der CCD-Zeile mit einer hohen Ausleserate erfolgen.

Die hohe Ausleserate kann im beschriebenen Ausführungsbeispiel auch erreicht werden, wenn bspw. statt einer CCD-Zeile mit 512 Pixeln eine CCD-Zeile mit 1024 oder mehr Pixeln Verwendung findet, von denen nur ca. 500 mit überlagertem Licht bestrahlt und ausgeslesen werden.

Die Aufnahmen des erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskops zeichnen sich dadurch aus, dass in einer bestimmten Tiefe der Probe ein Volumen mit einer axialen Ausdehnung im Bereich der Schärfentiefe der konfokalen Mikroskopoptik vermessen wird. Da die Probe in Lateralrichtung flächig gescannt wird, fallen sehr hohe Datenraten an. Das Gesamtsystem sollte daher für eine schnelle Datenerfassung ausgelegt und optimiert sein. Im Folgenden wird die hierfür nötige Ausleserate der CCD-Zeile abgeschätzt:

Der Tiefenhub Δz des Kohärenzmikroskops ist gegeben durch:

30

$$\Delta z = N\lambda / 2P,$$

wobei N die Pixelzahl der CCD-Zeile, λ die Wellenlänge der Lichtquelle (typischerweise 800 nm) und P die Pixelzahl pro Periode des

Interferenzsignals ist. Die Pixelzahl pro Periode sollte mindestens $P = 2$ betragen, um das Abtasttheorem zu erfüllen. Vergleicht man die Anordnung mit einem Laser-Scan-Mikroskop, so sollte die Zahl der aufgenommenen Bildpunkte in Lateralrichtung (X, Y) typischerweise bei $250 \times 250 = 62500$ liegen. Bei einer 3D-Bildfrequenz von 1 Hz muss die CCD-Zeile folglich mit einer Zeilenfrequenz von 62,5 kHz ausgelesen werden. Die Länge der CCD-Zeile ergibt sich für einen Tiefenhub von $\Delta z = 100 \mu\text{m}$ und einer Periode von 2 zu $N = 500$. Bei geringerem Tiefenhub kann die Zahl der Pixel pro Periode auch höher als 2 sein; ohne dass eine längere Zeile verwendet werden muss. Alternativ kann jedoch bei geringerem Tiefenhub auch die Pixelzahl pro Periode beibehalten und dafür die Länge der CCD-Zeile verringert werden. Die Pixelzahl pro Periode sollte wie erwähnt mindestens 2 betragen und vorteilhafterweise höchstens bei 4 liegen, um unnötig lange Zeilen zu vermeiden.

15

Die Tiefenauflösung wird im erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskop wie beim OCT durch die Kohärenzlänge der Lichtquelle 1 bestimmt. Jede Lichtquelle strahlt über eine bestimmte Zeitspanne, nämlich über die Kohärenzzeit, kohärentes Licht aus. Lichtquellen mit sehr kurzen Kohärenzzeiten werden hierbei als zeitlich inkohärente Lichtquellen angesehen. Die Kohärenzzeit lässt sich in eine Kohärenzlänge umrechnen. Nur solche Lichtstrahlen, deren zurückgelegte Wegstrecken sich um weniger als die Kohärenzlänge unterscheiden, können miteinander interferieren. Je kürzer die Kohärenzlänge ist, desto exakter müssen daher die zurückgelegten Weglängen von Messstrahl und Referenzstrahl übereinstimmen, damit diese miteinander interferieren können, d.h. der Streckenunterschied muß kleiner als die Kohärenzlänge sein. Bei kürzerer Kohärenzlänge ist deshalb ein genaueres Ermitteln des Tiefenbereiches, aus dem der Messstrahl reflektiert worden ist, und damit eine bessere Tiefenauflösung des Mikroskops möglich.

Mit den Kohärenzlängen gängiger inkohärenter Lichtquellen sind Tiefenauflösungen von $10 \mu\text{m}$ erreichbar. Mit modernen Lichtquellen lassen sich Auflösungen bis unter $1 \mu\text{m}$ realisieren. Vorzugsweise ist die Tiefenauflösung des Kohärenzmikroskops besser als $20 \mu\text{m}$, weiter vorzugsweise besser als

10 μm und insbesondere besser als 1 μm , wobei die Tiefenauflösung von der gewünschten Anwendung des Kohärenzmikroskops abhängen kann.

5 Weitere Einzelheiten des Aufbaus des Detektors, der Detektion und des Ermittels des Tiefenprofils aus den von der CCD-Zeile detektierten Intensitäten sind in DE 199 29 406 beschrieben, auf deren Offenbarung in diesem Zusammenhang verwiesen wird.

10 Mit dem Kohärenzmikroskop kann das Volumen ΔX , ΔY , ΔZ der streuenden Probe 13 mit einer hohen lateralen (X, Y) und axialen (Z) Auflösung vermessen werden. Die Probe 13 wird analog zum konfokalen Laser-Scan-Mikroskop mit der konfokalen Mikroskopoptik abgerastert. Im erfindungs-
15 gemäßen Kohärenzmikroskop wird die Konfokalität jedoch nicht wie beim konfokalen Laser-Scan-Mikroskop zum Erhöhen der lateralen Auflösung oder zum Ermöglichen des Messens in scharf begrenzten Tiefenbereichen ($< 10 \mu\text{m}$) genutzt. Stattdessen dient die Konfokalität lediglich zum Reduzieren von Fremdlicht, welches von außerhalb des zu untersuchenden Probenbereiches stammt.

20 In alternativen Ausgestaltungen des erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskops, insbesondere der Scaneinrichtung 32, können die Galvanometerspiegel 33, 35 vollständig oder teilweise durch andere Scanelemente, wie bspw. drehbare Polygonspiegel, ersetzt sein.

25 Ein zweites Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskops ist in Figur 2 dargestellt. Es unterscheidet sich vom ersten Ausführungsbeispiel lediglich dadurch, dass zwischen der Scaneinrichtung 32 und der Mikroskopoptik 28 eine Fokussierlinse 26 und ein geordnetes Faserbündel 100, welches eine Anzahl optischer Fasern, vorzugsweise
30 Monomodefasern, umfasst, angeordnet sind.

Über das geordnete Faserbündel 100 wird das Messlicht der Mikroskopoptik 28 zugeführt. Das Einleiten des Messlichtstrahls in die proximalen Enden 106 der optischen Fasern des Faserbündels 100 erfolgt über die Fokussierlinse

26, mit welcher der Messlichtstrahl auf die Eingangsflächen der Fasern fokussiert wird. Die Scaneinrichtung 32, die wie im ersten Ausführungsbeispiel ausgebildet ist, ermöglicht dabei, den Messlichtstrahl so auf die Fokussierlinse 26 auszurichten, dass er auf das proximale Ende einer ausgewählten Faser des Faserbündels 100 fokussiert wird. Mittels einer Scansteuerung (nicht dargestellt) werden die Galvanometerspiegel 33, 35 der Scaneinrichtung 32 so gesteuert, dass der Messlichtstrahl nacheinander in alle Fasern oder mindestens in eine definierte Untermenge aller Fasern des optischen Faserbündels eingeleitet wird.

10

Das Einkoppeln des Messlichtstrahls in die proximalen Enden der einzelnen Fasern des geordneten Faserbündels 100 kann auf mehrere Arten verbessert werden, um ein optimales Einkoppeln in die einzelnen Fasern mit maximaler Scangeschwindigkeit zu erzielen.

15

Eine ohne großen Aufwand zu realisierende Möglichkeit, das Einkoppeln zu verbessern, besteht darin, den in das Faserbündel 100 einzukoppelnden Lichtstrahl mittels der Fokussierlinse 26 nicht vollständig zu fokussieren, sondern leicht zu defokussieren, so dass am Ort einer Faser, in welche er eingekoppelt werden soll, die Fläche des defokussierten Messlichtstrahls etwas größer ist, als die Eintrittsflächen der Fasern. Auf diese Weise kann sichergestellt werden, dass jede Einzelfaser auf gleiche Weise gut getroffen wird. Mit dem Defokussieren ist jedoch ein Signalverlust verbunden, der nicht in allen Anwendungen akzeptabel ist.

25

Eine alternative Möglichkeit, das Einkoppeln zu verbessern, besteht darin, die Scaneinrichtung 32 so zu steuern, dass jede Einzelfaser des Faserbündels 100 vom rasternden Lichtstrahl optimal getroffen wird. Die optimale Einstellung der Scaneinrichtung wird in einem Initialisierungsschritt für jede Einzelfaser ermittelt. Im Initialisierungsschritt kann z.B. das proximale Ende 106 des Faserbündels in einem Raster abgerastert werden, das feiner ist als das Raster, welches sich aus der Anordnung der proximalen Enden der Einzelfasern ergibt. Die beim Abrastern am proximalen Ende 106 des Faserbündels 100 auftretenden Reflexe, sind stärker, wenn sie von einer

30

Einzelfaser stammen, als wenn sie vom Umgebungsmaterial, in welches die Einzelfasern eingebettet sind, stammen. Durch Messen der Reflexe kann daher die exakte Position der Einzelfasern ermittelt werden. Die Ansteuerung durch die Scansteuerung erfolgt dann anhand der im Initialisierungsschritt
5 ermittelten Positionen. Dadurch, dass die Reflexe der Einzelfasern stärker sind als die des Umgebungsmaterials, ist es möglich, die Reflexe auch zum Synchronisieren der Datenaufnahme zu verwenden.

Am distalen Ende 102 des Faserbündels ist eine konfokale Mikroskopoptik
10 28 angeordnet, mit der das aus den Fasern des Faserbündels 100 austretende Messlicht auf die Probe 13 fokussiert wird. Mittels der Mikroskopoptik 28 wird das von der Probe 13 reflektierte Messlicht außerdem wieder auf das distale Ende derjenigen Faser des Faserbündels 100 fokussiert, aus der es ausgetreten ist. Das distale Ende der Faser, d.h. seine
15 numerische Apertur, stellt dabei sowohl die Punktlichtquelle als auch die konfokale Blende der konfokalen Optik dar. Auch in diesem Ausführungsbeispiel ist es vorteilhaft, wenn die numerische Apertur und die Vergrößerung der Mikroskopoptik so gewählt sind, dass die laterale Auflösung des Mikroskops näherungsweise dem Durchmesser einer Faser
20 (typischerweise 1 bis 10 μm) entspricht und ein maximaler axialer Schärfenbereich erreicht wird.

Statt durch die numerische Apertur einer Einzelfaser des Faserbündels 100 kann die konfokale Blende auch im zweiten Ausführungsbeispiel durch die
25 numerische Apertur des Messlichtleiters 8 gegeben sein.

Das von der Probe 13 reflektierte Messlicht wird über das Faserbündel 100 und die Galvanometerspiegel 33, 35 der Scaneinrichtung 32 einem im Messzweig 7 angeordneten Mischer 27 zugeleitet. Dieser mischt das von der
30 Probe 13 reflektierte Messlicht mit dem vom Aufteiler 3 stammenden Messstrahl im Verhältnis 50:50. Das derart aufbereitete Messlicht wird in einen Messlichtleiter 29, vorzugsweise eine Monomodefaser, einkoppelt, der das Messlicht dem Strahlausgang 31 des Messzweiges 7 zuleitet. Das

Überlagern der Messlichts mit dem Referenzlicht und das Detektieren des überlagerten Lichtes erfolgt dann wie im ersten Ausführungsbeispiel.

5 Eine alternative Ausführungsform der Scaneinrichtung 32 und des optischen Faserbündels 100 wird nun mit Bezug auf Fig. 3 beschrieben. Das optische Faserbündel 100 weist an seinem distalen Ende 102 die übliche, nahezu hexagonale Anordnung der Einzelfasern 104 auf. Im Unterschied zu den üblichen Faserbündeln sind die Einzelfasern 104 am proximalen Ende 106 des Faserbündels 100 jedoch in einer Zeile 105 angeordnet. Umfasst das
10 Faserbündel 100 bspw. 50000 Einzelfasern, die im Abstand von 4 μm linear angeordnet sind, so ergibt sich eine Ausdehnung der Zeile 105 von 20 cm.

Die Scaneinrichtung 32 zum Scannen der Faserzeile 105 am proximalen Ende 106 des Faserbündels 100 umfasst einen drehbaren Polygonspiegel
15 108 mit einer Anzahl von reflektierenden Polygonflächen 110, dessen Rotationsachse senkrecht zur Ausdehnungsrichtung der Faserzeile verläuft. Von den reflektierenden Polygonflächen 110 wird der Messlichtstrahl in Richtung auf die Einzelfasern 104 der Zeile 105 abgelenkt. Die Anordnung des Polygonspiegels 108 relativ zur Faserzeile 105 ist so gewählt, dass die
20 Zeile 105 während einer vollen Drehung des Polygonspiegels 108 so oft abgerastert wird, wie der Polygonspiegel 108 Polygonflächen 110 aufweist. Die zeilenförmige Ausgestaltung des proximalen Endes 106 des Faserbündels 100, d.h. die lineare Anordnung der Einzelfasern, ermöglicht somit ein neuartiges Verfahren des Flächenscans, in welchem das Ablenken des
25 Messlichtstrahls zum Durchführen des Flächenscans nur in eine Richtung erfolgt. Das Abrastern der Zeile mittels des Polygonspiegels 108 erlaubt sehr hohe Scanfrequenzen.

Mit dem Kohärenzmikroskop wird an jedem Punkt der XY-Ebene ein
30 vollständiges Tiefenprofil aufgenommen (sog. A-Scan), ohne das ein longitudinales Scannen (z-Scan) erfolgt. Für Proben, in denen nur ein geringer Tiefenbereich aufzunehmen ist kann eine kurze CCD-Zeile oder eine lange CCD-Zeile, von der jeweils nur ein kurzer Teilbereich ausgelesen wird, Verwendung finden. Die kurze Zeile bzw. der kurze Teilbereich kann

zum Durchführen eines A-Scans mit einer hohen Zeilenfrequenz ausgelesen werden. Dadurch können sehr hohe Messgeschwindigkeiten beim Durchführen solcher Scans erzielt werden.

- 5 Das erfindungsgemäße Kohärenzmikroskop ermöglicht eine Vereinfachung des Scanvorgangs. Anstelle eines vollständigen XY-Scans, bspw. mittels eines Endoskops, wird die Probe entlang einer XZ-Ebene, d.h. lediglich entlang einer X-Linie, gescannt (sog. B-Scan). Die X-Richtung ist sowohl in ihrer Orientierung als auch in ihrer „Breite“ einstellbar, ohne dass eine neue
- 10 Positionierung der Optik, bspw. des Endoskops nötig wäre. Dieses Verfahren ermöglicht dem Pathologen eine sehr schnelle optische Biopsie, die einen Schnitt in gewohnter Orientierung liefert. Insbesondere kann die Breite der eindimensionalen Linie an die gewünschte Auflösung und/oder die gewünschte Signalstärke angepasst werden.

15

- Wesentliche Anwendungsbereiche des erfindungsgemäßen Kohärenzmikroskops liegen in der optischen Biopsie und in der In-Vivo-Histologie. Das beschriebene Verfahren eignet sich für äußere Anwendungen (Untersuchungen an der Haut und der Mucosa), für endoskopische Diagnose-
- 20 verfahren, insbesondere im Magen-Darm-Trakt, und für ophthalmologische Untersuchungen an der Retina.

Patentansprüche

1. Kohärenzmikroskop, umfassend:
 - eine zeitlich inkohärentes Licht abgebende Lichtquelle (1),
 - 5 - einen Aufteiler (3) zum Aufteilen des von der Lichtquelle (1) abgegebenen Lichtes in Messlicht, welches einer Probe (13) zugeleitet und von dieser reflektiert wird, und Referenzlicht;
 - eine Überlagerungseinrichtung (25, 31) zum räumlichen Überlagern des von der Probe (13) reflektierten Messlichts mit dem
 - 10 Referenzlicht; und
 - eine Sensorzeile (41) zum Detektieren des aus der Überlagerung resultierenden Lichts;wobei
 - die Überlagerungseinrichtung eine Abstrahleinrichtung (25, 31)
 - 15 zum Abstrahlen des Messlichts und des Referenzlichtes aufweist, die derart ausgebildet und relativ zur Sensorzeile (41) angeordnet ist, dass eine ausgedehnte Bestrahlung mindestens eines Teils der Sensorzeile (41) mit überlagertem Licht erfolgt und das Verhältnis der von dem Messlicht und dem Referenzlicht von der
 - 20 Abstrahleinrichtung (25, 31) bis zum jeweiligen Auftreffpunkt auf der Sensorzeile (41) zurückgelegten Wege im mit überlagertem Licht bestrahlten Abschnitt der Sensorzeile (41) variiert,dadurch gekennzeichnet, dass
 - die Sensorzeile (41) derart ausgestaltet ist, dass sie eine Auslese-
 - 25 rate von mindestens 60 kHz ermöglicht;
2. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Sensorzeile (41) nicht mehr als ca. 1000 Sensorelemente bzw.
- 30 genutzte Sensorelemente umfasst.
3. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Sensorzeile (41) nicht mehr als ca. 500 Sensorelemente bzw. genutzte Sensorelemente umfasst.

4. Kohärenzmikroskop nach einem der Ansprüche 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, dadurch gekennzeichnet, dass es einen Tiefenhub aufweist, welcher mindestens der Tiefenauflösung des Kohärenzmikroskops und höchstens $N\lambda/4$ entspricht, wobei λ die Wellenlänge des von der Lichtquelle (1) abgegebenen Lichts ist und N die Zahl der Sensorelemente in der Sensorzeile (41).
5
5. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass sein Tiefenhub 100 μm oder weniger beträgt.
10
6. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass sein Tiefenhub 20 μm oder weniger beträgt.
- 15 7. Kohärenzmikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass sein Tiefenhub im Wesentlichen seiner Tiefenauflösung entspricht.
8. Kohärenzmikroskop nach einem der vorangehenden Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass es eine Messlicht abgebende Punktlichtquelle und mindestens eine konfokale Blende umfasst und dass eine Mikroskopoptik (28) zum Fokussieren des Messlichtes auf die Probe (13) sowie zum Fokussieren des von der Probe reflektierten Messlichtes auf die mindestens eine konfokale Blende oder eine weitere konfokale Blende vorhanden ist.
20
25
9. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Apertur der mindestens einen konfokalen Blende derart gewählt ist, dass die Tiefenausdehnung der konfokalen Zone im Wesentlichen dem Tiefenhub des Kohärenzmikroskops entspricht.
30
10. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass eine optische Faser (8) vorhanden ist, die das Messlicht der Mikroskopoptik (28) zuführt.

11. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Faser (8) eine Monomodefaser ist.
- 5 12. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 10 oder 11 dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine konfokale Blende durch die optische Faser (8) gebildet ist.
- 10 13. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen die optische Faser (8) und die Mikroskoptoptik ein geordnetes Faserbündel (100) zwischengeschaltet ist.
- 15 14. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 13 dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine konfokale Blende durch die optische Faser (8) oder durch die Fasern (104) des Faserbündels (100) gebildet ist.
- 20 15. Kohärenzmikroskop nach einem der vorangehenden Ansprüche und Anspruch 13 oder 14 , dadurch gekennzeichnet, dass das geordnete Faserbündel (100) in ein Endoskop integriert ist.
- 25 16. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroskoptoptik (28) am distalen Ende des Endoskops angeordnet ist.
- 30 17. Kohärenzmikroskop nach einem der Ansprüche 13 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass die numerische Apertur und die Vergrößerung der Mikroskoptoptik (28) derart gewählt sind, dass die optische Auflösung an der Faserbündelendfläche dem Durchmesser der Fasern (104) des geordneten Faserbündels (100) entspricht.
18. Kohärenzmikroskop nach einem der Ansprüche 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass eine Scaneinrichtung (32; 108) zum Einkoppeln von Messlicht in die Fasern (104) und/oder zum Auskoppeln von der

Probe (13) reflektierten Messlichts aus den Fasern (104) des geordneten Faserbündels (100) vorhanden ist.

- 5 19. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der Scaneinrichtung (32, 108) und dem proximalen Ende (106) des geordneten Faserbündels (100) eine Optik (26) vorhanden ist, die derart ausgestaltet ist, dass sie das am proximalen Ende (106) des Faserbündels (100) in die Fasern (104) einzukoppelnde Lichte leicht defokussiert.
- 10 20. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass eine Scansteuerung vorhanden ist, die zum Durchführen einer Initialisierung ausgestaltet ist, in welchem die Mittellage der Fasern (104) am proximalen Ende (106) des geordneten Faserbündels
- 15 ermittelt wird.
21. Kohärenzmikroskop nach einem der Ansprüche 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Fasern (104) des geordneten Faserbündels (100) an dessen proximalem Ende (106) linear nebeneinander
- 20 angeordnet sind.
22. Kohärenzmikroskop nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Scaneinrichtung (32) einen drehbaren Polygonspiegel (108) umfasst.
- 25 23. Kohärenzmikroskop nach einem der Ansprüche 13 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass die numerische Apertur und die Vergrößerung der Mikroskopoptik (28) derart gewählt sind, dass die laterale Auflösung näherungsweise dem Durchmesser der Fasern (104) des
- 30 geordneten Faserbündels (100) entspricht und ein maximaler Tiefenhub erreicht wird.
24. Verfahren zum Betreiben eines Kohärenzmikroskops nach einem der Ansprüche 1 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass ein Scannen der

Probe entlang einer eindimensionalen Linie innerhalb einer lateralen Scannebene erfolgt, deren Orientierung einstellbar ist.

- 5 25. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Breite der eindimensionalen Linie an die gewünschte Auflösung und/oder die gewünschte Signalstärke angepasst wird.

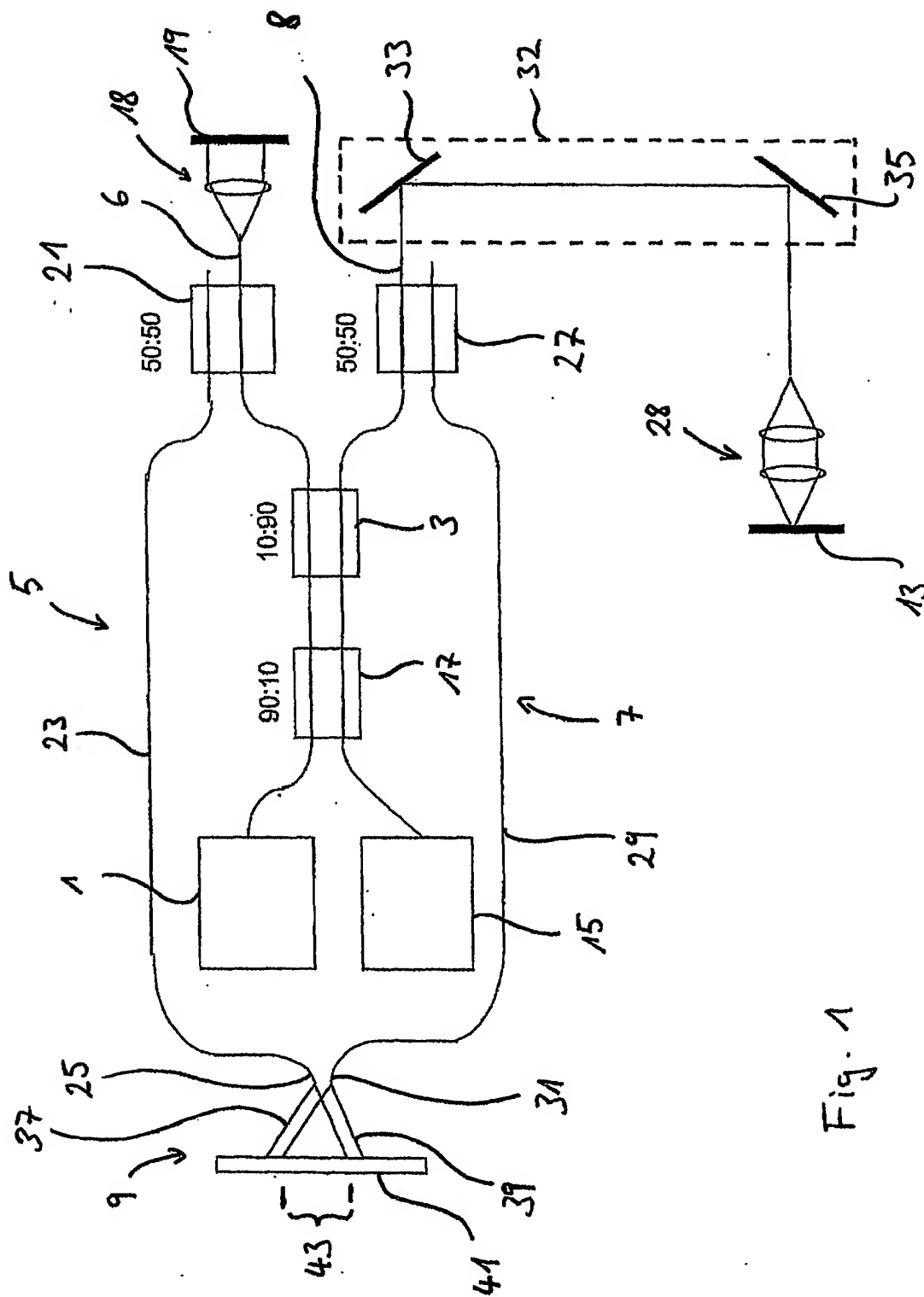


Fig. 1

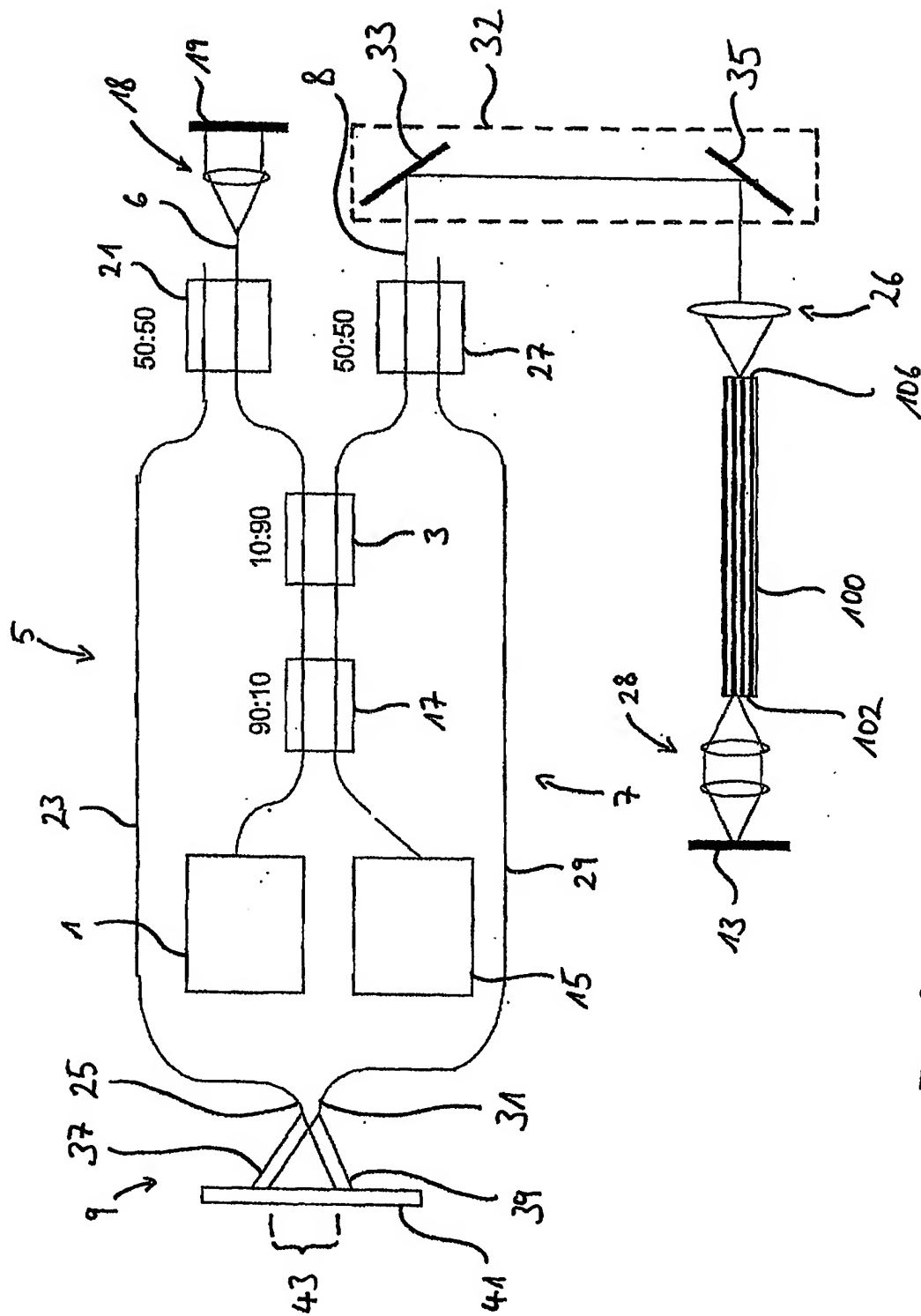


Fig. 2

